

ANALISIS VIABILITAS PROBIOTIK *Lactobacillus* TERENKAPSULASI DALAM PENYALUT DEKSTRIN DAN JUS MARKISA (*Passiflora edulis*)

Titin Yulinery dan N. Nurhidayat

Peneliti di Bidang Mikrobiologi, P2B LIPI.
Jl.Raya Bogor - Jakarta km 46 cibinong

Abstrak

Probiotik cair tidak efisien dalam stabilitas dan kemasan. Bubuk probiotik dapat disimpan lebih lama dan stabilitas dalam kualitas. Bubuk bisa dibuat dengan metode enkapsulasi sedangkan konsentrasi lapisan sangat penting. Rasa dari bubuk seperti jus markisa yang diperlukan untuk mendapatkan rasa bagus di minum. Penelitian ini menggunakan *L. plantarum* dan *Lactobacillus* Mar 8 A17 dengan menambahkan gairah jus buah dan dekstrin dengan konsentrasi beberapa seperti 2%, 5%, 10% dan 15%. Kemudian dikemas dengan menggunakan *spray dryer* pada 125°C. Bubuk dari *enkapsulasi* disimpan selama 2 minggu pada suhu 4°C, tahapan uji coba telah dilakukan untuk bedak sebelum dan setelah *enkapsulasi* setelah disimpan selama 2 minggu pada suhu 4°C. Setelah enkapsulasi bahwa berat tertinggi pada pengobatan dengan menggunakan jus buah gairah *Lactobacillus* A17 dengan dekstrin 15% adalah 5649,6 mg dan diikuti oleh *L. plantarum* Mar8 adalah 5400 mg. Kelangsungan hidup setelah enkapsulasi untuk setiap konsentrasi dekstrin yang signifikan, kecuali pada konsentrasi 10% tidak signifikan, tapi di gudang untuk penyimpanan dua minggu setelah enkapsulasi kelangsungan hidup *Lactobacillus* plantarum Mar8 dan A17 *Lactobacillus* signifikan. yaitu 8,59 log₁₀ cfu / g dan 7,28 log₁₀cfu / g. Penyimpanan setiap sampel adalah variasi, tetapi *Lactobacillus* A17 dengan dekstrin 10% dapat disimpan sampai 72,02 hari dan tingkat mortalitas adalah 0,00141 cfu / g / jam, sedangkan *L.plantarum* Mar8 bisa menjadi toko hanya sampai 14,63 hari dan tingkat mortalitas adalah 0,00867 cfu / g / jam. Jadi, perawatan ini dengan menambahkan jus markisa dengan dekstrin 10% dapat direkomendasikan sebagai probiotik dalam bentuk bubuk

kata kunci: *Lactobacillus*, *enkapsulasi*, *dekstrin*, gairah jus buah

Abstract

The liquid probiotic is not efficient in stability and packaging. The powder probiotic could be kept longer and stability in quality. Powder could be made by encapsulation method while the concentration of coating is very important. The flavor of the powder like passion fruit juice was needed to get the nice taste in drinking. This research used L. plantarum Mar 8 and Lactobacillus A17 by adding passion fruit juice and dextrin with several concentration like 2%, 5%, 10% and 15%. Then encapsulated by using spray dryer at 125°C. The powder of encapsulation stored for 2 weeks at 4°C, viability test had been done to the powder before and after encapsulation after stored for 2 weeks at 40C. After encapsulation that the highest weight on the treatment by using passion fruit juice of Lactobacillus A17 with 15% dextrin was 5649.6 mg and followed by L. plantarum Mar8 was 5400 mg. The viability after encapsulation for each dextrin concentration was significant, except at 10% concentration was not significant, but in storage for two

weeks storage after encapsulation the viability of *Lactobacillus plantarum* Mar8 and *Lactobacillus* A17 was significant. ie, 8.59 log10 cfu/g and 7.28 log10cfu/g. The storage of each sample were variation, but *Lactobacillus* A17 with 10% dextrin could be stored until 72.02 days and the mortality rate was 0.00141 cfu/g/hour, while *L.plantarum* Mar8 could be store only until 14.63 days and the mortality rate was 0,00867 cfu/g/hour. So, this treatment by adding passion fruit juice with 10% dextrin could be recommended as probiotic in powder forms

key words : *Lactobacillus*, encapsulation, dextrin, passion fruit juice

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Organisasi kesehatan dunia memberikan implementasi untuk mencari alternatif strategis sebagai pengobatan yang potensial untuk mengontrol penyakit seperti bakteri probiotik¹⁾. Bakteri asam laktat secara umum digunakan dalam fermentasi makanan dan minuman yang kontribusinya sebagai sensor kualitas makanan dan pencegahan *spoilage*²⁾. Probiotik merupakan bakteri hidup nonpatogen yang diasup setiap hari sebagai suplemen makanan sehingga terjaga keseimbangan dalam ekosistem mikrobiota usus dapat menguntungkan kesehatan tubuh³⁾, sehingga memperkuat sistem imunitas antara lain meningkatkan jumlah limfo-B dalam pelat peyer, yang merupakan pusat dari sistem ketahanan tubuh di usus halus⁴⁾, menurunkan jumlah bakteri patogen dengan memproduksi komponen anti bakteri serta melakukan kompetisi untuk memperoleh daerah kolonisasi⁵⁾. Hasil penelitian membuktikan bahwa bakteri probiotik tahan terhadap asam lambung dan asam empedu sehingga mampu mencapai usus dalam keadaan hidup⁶⁾. Probiotik beradhesi (melekat) dan membentuk koloni pada permukaan usus sehingga dapat menstimulir sistem imun dengan meningkatkan aktivitas makrofag⁷⁾.

Probiotik bermacam-macam jenisnya, namun berbeda pada efek immunomodulasinya⁸⁾, namun memiliki fungsi yang sama yakni menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus, salah satunya adalah *Lactobacillus plantarum*. *L. plantarum*

termasuk ke dalam bakteri asam laktat yang dapat digunakan sebagai probiotik⁷⁾.

L. plantarum termasuk dalam famili *Lactobacillaceae*⁹⁾, menghasilkan asam laktat > 85% sehingga dikategorikan bakteri asam laktat homofermentatif⁷⁾, tumbuh baik pada suhu 37°C (mesofil)¹⁰⁾ dengan pH optimum 4-6¹¹⁾. Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob, cepat mencerna protein, toleran terhadap asam. *L. plantarum* cenderung berbentuk batang pendek dalam kondisi pertumbuhan yang sesuai dan cenderung lebih panjang di bawah kondisi yang tidak menguntungkan, mempunyai kemampuan menghasilkan bakteriosin, merupakan senyawa polipeptida atau protein yang bersifat bakterisidal. Hal tersebut diperkuat oleh James et al.¹²⁾ yang menyatakan bahwa *L. plantarum* merupakan bakteri penghasil hidrogen peroksida tertinggi dibandingkan bakteri asam laktat lainnya. Berdasarkan hasil penelitiannya¹³⁾ *L.plantarum* mempunyai daerah penghambat terbesar terhadap *Listeria monocytogenes* dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya, sedangkan¹⁴⁾ mengatakan bahwa *L. plantarum* 299 v dapat meningkatkan konsentrasi asam karbosilik pada feses, mencegah iritasi usus dan menurunkan konsentrasi fibrinogen dalam darah sehingga mengurangi faktor resiko thrombosis.

Probiotik yang beredar dipasaran kebanyakan dalam bentuk sediaan cair, namun kurang efisien dalam hal stabilitas (kadaluarsa, penyimpanan) maupun dalam pengemasan¹⁵⁾, disamping itu kemungkinan untuk ditumbuhi bakteri lain lebih besar dibandingkan dalam bentuk serbuk, oleh karena itu perlu dibuat sediaan dalam

bentuk padat. Industri penghasil probiotik mengimpor bakteri nonpatogen dalam bentuk serbuk dari luar negeri, hal inilah yang menyebabkan mahalnya harga probiotik. Bila probiotik ini dapat dibuat sendiri tanpa harus mengimpor dari luar negeri maka harganya akan lebih murah dan dapat dikonsumsi oleh masyarakat menengah kebawah.

Salah satu alternatif untuk pengawetan kultur adalah dengan pengeringan. Pengeringan bertujuan untuk memperpanjang daya simpan, mem permudah distribusi dan memudahkan pemeliharaan .

Menurut¹⁶⁾, enkapsulasi memberikan sarana untuk mengubah komponen dalam bentuk cair menjadi partikel padat dan melindungi materi dari pengaruh lingkungan.

Pembuatan sediaan serbuk bakteri ini dapat dilakukan dengan metoda *spray-drying* atau pengeringan semprot yaitu dengan menggunakan uap panas dimana kandungan air akan mengering dan mengubah bahan menjadi serbuk¹⁷⁾, sering digunakan untuk bahan-bahan makanan yang berbentuk cairan atau pasta dengan viskositas rendah. Pengeringan semprot dapat menghasilkan produk yang berkualitas tinggi, terutama untuk bahan-bahan yang sensitif terhadap panas. Hal ini disebabkan oleh proses atomisasinya yang menggunakan sejumlah udara¹⁸⁾. Selain pengeringan semprot pengeringan beku (*freeze dryer* (pengeringan beku) dapat digunakan, namun prosesnya sedikit rumit karena membutuhkan ruang beku dan vakum¹⁹⁾.

Penambahan bahan pengisi perlu dilakukan untuk menurunkan kecenderungan bubuk melekat pada dinding pengering. Salah satu bahan penyalut yang digunakan untuk pengeringan semprot adalah dektrin. Dektrin merupakan material hasil degradasi pati yang mempunyai viskositas yang rendah. Viskositas yang rendah dari dektrin penting untuk pembuatan dan pengeringan lapisan tipis²⁰⁾. mudah larut dalam air mendidih, membentuk larutan mucilago, hampir tidak larut dalam alkohol, chloroform, eter, banyak

digunakan di industri-industri sebagai bahan pengikat dan bahan pengental²¹⁾.

Penambahan jus markisa (*Passiflora edulis*) digunakan sebagai komponen penambah rasa sehingga dapat dihasilkan probiotik dalam bentuk sediaan padat dengan rasa yang enak dan harga yang lebih terjangkau. Markisa merupakan salah satu jenis buah-buahan yang termasuk keluarga *Passifloraceae*. Buah markisa banyak dibudidayakan di Sumatra Utara dan Sulawesi Selatan yang buahnya diolah menjadi sirup secara komersial²²⁾.

Dengan menggunakan *spray-dryer*, seluruh air dari bahan yang akan dikeringkan diubah dalam bentuk butiran-butiran air dengan cara diuapkan menggunakan *atomizer*. Air dari bahan yang telah berbentuk tetesan-tetesan tersebut kemudian dikontakkan dengan udara panas. Peristiwa pengontakan ini menyebabkan air dalam bentuk tetesan-tetesan mengering dan berubah menjadi serbuk. Selanjutnya proses pemisahan antara uap panas dengan serbuk dilakukan dengan *cyclone* atau penyaring, setelah dipisahkan, suhu kembali diturunkan sesuai dengan kebutuhan produksi ¹⁷⁾.

Viabel atau viabilitas merupakan jumlah sel yang dapat hidup biasanya diperkirakan sebagai ukuran konsentrasi sel²³⁾. Viabilitas kultur kering selama penyimpanan dipengaruhi oleh suhu penyimpanan dan bahan pengemas yang digunakan²⁴⁾. Kultur kering bakteri asam laktat yang disimpan pada suhu dingin (4°C) mempunyai viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur kering yang disimpan pada suhu kamar²⁵⁾. Penyimpanan kultur kering pada suhu kamar sangat tidak direkomendasikan, apapun jenis pengeringannya (*Spray/Freeze drying*) karena kultur bakteri asam laktat (BAL) lebih stabil disimpan pada suhu dingin.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi dektrin yang optimal sebagai penyalut dan pelindung *Lactobacillus* dalam jus markisa sehingga menghasilkan viabilitas yang tinggi dan daya terima yang baik dalam masyarakat.

Memberi informasi kepada para pelaku industri farmasi bahwa pembuatan serbuk *Lactobacillus* dapat dilakukan dengan metoda *spray-drying* dan dengan penambahan dekstrin sebagai bahan penyalut.

2. METODOLOGI

2.1. Peremajaan *Lactobacillus* sebagai kultur induk

Isolat *Lactobacillus plantarum* Mar 8 dan *Lactobacillus* A17 diisolasi dari buah markisa (Medan), merupakan koleksi Lab. Genetika, Bidang Mikrobiologi, LIPI. Sebelum digunakan untuk dienkapsulasi dan setelah enkapsulasi, isolat isolat tersebut dilakukan pengujian seperti di bawah ini

2.2. Uji Zona Bening

Isolat ditumbuhkan pada media GYP yang mengandung glukosa 10 g, yeast extract 10 g, Trypton 10 g, Natrium asetat anhidrat 1,4 g, beef extract 2 g, tween 80 10 ml, Salt solution 5 ml (natrium klorida 0,1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, Feri Sulfat anhidrat 0,1 g), agar 20 g, dilarutkan dalam 1 L akuades lalu disterilisasi dengan autoklaf. Dilakukan penambahan CaCO_3 sebanyak 0,5% pada media GYP padat yang digunakan sebagai media pemupukan. Isolat yang tumbuh sebagai *Lactobacillus* akan membentuk zona bening disekitar koloni.

2.3. Uji Katalase

Satu ose koloni yang terbentuk pada media GYP padat digoreskan pada sebuah kaca objek yang telah diberi satu tetes H_2O_2 3%. Kemudian diamati terbentuknya gelembung gas pada koloni dan sekitarnya. Jika terdapat gelembung gas menandakan uji katalase tersebut positif⁽²⁶⁾. *Lactobacillus* akan menunjukkan katalase negatif.

2.4. Uji Pewarnaan Gram

Preparat ulas bakteri dari koloni yang akan di uji dibuat pada kaca objek, difiksasi diatas api bunsen. Preparat ditetesi dengan satu tetes larutan kristal violet, didiamkan

gu dan negatif jika sel berwarna merah⁽²⁷⁾. *Lactobacillus* didiamkan selama 60 detik, dan dicuci dengan akuades. Preparat ditetesi lagi dengan satu tetes larutan lugol, dibiarkan selama 30 detik, dan dicuci dengan akuades. Preparat kemudian ditetesi dengan satu tetes etanol 70%, lalu didiamkan lagi selama 30 detik, kemudian dicuci dengan akuades. Preparat ditetesi dengan satu tetes safranin, didiamkan selama 30 detik, dan dicuci dengan akuades. Terakhir preparat dikeringkan dan ditetesi dengan minyak imersi, lalu diamati dengan mikroskop. Uji gram positif jika sel berwarna ungu dan negatif jika sel berwarna merah). *L. plantarum* akan memperlihatkan bentuk batang dan warna ungu (gram positif)⁽²⁷⁾.

2.5. Preparasi sampel control

Dipilih buah markisa yang matang dan segar, lalu disortasi basah dengan air mengalir dan tiriskan. Dibuat jus markisa dengan perbandingan 1:3 yakni 25 mL sari markisa ditambahkan 75 mL akuades. Kemudian dimasukkan dekstrin 10% lalu dicampur hingga homogen (dilakukan pengukuran pH). Campuran disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit. Setelah itu dimasukkan ke dalam *spray-dryer* pada suhu 125°C

2.6. Preparasi sampel untuk encap sulasi

Lactobacillus diinokulasi dalam 100 mL media GYP *Broth* lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (Kultur Induk). Sebanyak 10 mL *L. plantarum* Mar 8 dan A 17 dari kultur induk diinokulasi ke dalam media GYP *Broth* masing masing 100 mL lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, diambil peletnya dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Kemudian pelet dicuci dengan akuades steril dan disentrifugasi kembali.

Dibuat 100 mL sari markisa yang telah diencerkan dengan akuades dengan perbandingan 1:3 dan mengandung dekstrin

dengan konsentrasi 2%, 5%, 10%, dan 15% , kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit (dilakukan pengukuran pH sebelum proses sterilisasi). Pelet *Lactobacillus* siap untuk ditambahkan ke dalam jus markisa tersebut.

Sebanyak 1 mL dari masing-masing sampel disimpan dalam eppendorf untuk keperluan analisis viabilitas sebelum enkapsulasi. Sisa sampel dienkapsulasi dengan *spray-dryer* pada suhu inlet 125°C sampai diperoleh masa berbentuk serbuk. Setelah selesai enkapsulasi probiotik *Lactobacillus*, lalu diuji viabilitasnya

dengan cara ditanam segera setelah enkapsulasi. Sisa enkapsulasi disimpan pada suhu 4°C dan didiamkan selama 2 minggu untuk uji viabilitas tahap selanjutnya. Uji viabilitas dilakukan duplo. Dilakukan secara aseptik.

2.7. Uji Viabilitas *Lactobacillus*

Untuk analisis viabilitas sebelum enkapsulasi, diambil sebanyak 100 µL dan untuk analisis viabilitas segera setelah enkapsulasi dan dua minggu setelah enkapsulasi, diambil sebanyak 0,1 g serbuk hasil *spray-dryer*, masing-masing dibuat pengenceran secara seri sampai 107 dengan larutan NaCl fisiologis (0,85%) dan dihomogenkan. Setelah itu sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang sudah berisi media GYP padat + CaCO₃. Kemudian inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Dihitung koloni tumbuh (Cfu/mL)

2.8. Analisis Data

Untuk menentukan waktu simpan sel (t) dalam satuan Cfu/g/jam dan laju kematian sel (k) (hingga mencapai jumlah sel 10⁶ Cfu/g terenkapsulasi menggunakan persamaan :

$$| \log N_2 - \log N_1 | = k (t) / 2,303$$

Keterangan:

Log N1 = Logaritma rata-rata viabilitas setelah enkapsulasi

Log N2 = Logaritma rata-rata viabilitas 2 minggu setelah enkapsulasi

k = Laju kematian per jam

t = Waktu penyimpanan

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan Statistical Package For The Social Sciences (SPSS) For Window v.10.0 untuk mengetahui adanya perbedaan dari tiap perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Enkapsulasi

Pembuatan sediaan serbuk bakteri dilakukan dengan metoda *spray-drying* atau pengeringan semprot yaitu dengan menggunakan uap panas sehingga kandungan air akan mengering dan mengubah bahan menjadi serbuk ¹⁷⁾. Hasil enkapsulasi dengan penambahan konsentrasi dekstrin yang berbeda akan menghasilkan serbuk dengan berat dan karakteristik serbuk yang berbeda. Pada Tabel 1 terlihat bahwa bobot yang paling tinggi dari hasil enkapsulasi yaitu pada *L. plantarum* Mar 8+dekstrin 10% (tanpa jus markisa) sebesar 5823,8 mg (nilai rendemen sebesar 52,24%), sedangkan bobot yang tertinggi menggunakan jus markisa yakni pada perlakuan *Lactobacillus* A17+dekstrin 15% dan diikuti dengan perlakuan *L. plantarum* Mar8 +dekstrin 15% yakni 5649,6 mg (nilai rendemen sebesar 36,48%) dan 5400 mg (nilai rendemen sebesar 33,96%). Bobot perlakuan dengan penambahan jus markisa lebih rendah tanpa jus markisa, disebabkan karena selama proses enkapsulasi penambahan jus markisa membuat sediaan menjadi lebih lengket akibat panas yang ditimbulkan pada saat enkapsulasi sehingga banyak yang tertinggal pada alat *spray dryer*, selain itu jumlah penyalut yang dimasukkan berpengaruh terhadap jumlah serbuk yang dihasilkan. *Enkapsulasi* mengubah komponen dalam bentuk cairan menjadi partikel padat dan melindungi materi

dari pengaruh lingkungan¹⁶⁾. Penggunaan dekstrin 10% dan suhu *inlet spray-drying* 125°C akan menghasilkan kualitas bubuk yang baik secara fisika, kimia dan organoleptik. Hal lain yang dapat mempengaruhi berkurangnya bobot hasil serbuk adalah proses enkapsulasi, dimana dalam setiap proses dapat terjadi kesalahan seperti kenaikan suhu dikarenakan pemampatan pada alat semprot (*Nozzle*).

Dari grafik hasil rendemen (Gambar 1) menunjukkan bahwa tingginya nilai rendemen tidak hanya ditentukan oleh banyaknya jumlah serbuk hasil enkapsulasi yang diperoleh, tetapi perbandingan antara jumlah padatan yang ditambahkan pada larutan yang akan dienkapsulasi dengan serbuk hasil *enkapsulasi* tidak berbeda jauh. Pada *Lactobacillus* A17 dengan konsentrasi dekstrin 5% (H) menunjukkan nilai rendemen tertinggi yaitu sebesar 86,928%. Hal tersebut dikarenakan penurunan berat padatan sebelum dan sesudah dienkapsulasi hanya berkurang sedikit. Sedangkan tanpa jus markisa menghasilkan serbuk terbanyak dan nilai rendemen yang dihasilkan tidak terlalu tinggi. Hal ini dikarenakan berat padatan sesudah dienkapsulasi menurun setengahnya dari berat awal.

Penambahan dekstrin pada proses enkapsulasi menghasilkan serbuk yang bervariasi, dimana serbuk tersebut memiliki bentuk yang berbeda terlihat seperti butiran sangat kecil dan berwarna putih pada *L. plantarum* Mar 8 + dekstrin 10% dan pada konsentrasi dekstrin 15% butiran berwarna kuning pucat. Pada kontrol dan konsentrasi dekstrin 10% butiran lebih besar dan saling melekat, berwarna kekuning-kuningan. Konsentrasi dekstrin 2% dan 5% tidak menghasilkan serbuk pada proses enkapsulasi dikarenakan dekstrin yang ditambahkan sebagai penyalut terlalu sedikit.

Untuk mengetahui kualitas dari hasil enkapsulasi maka dilakukan uji organoleptik. Hasil dari uji organoleptik menunjukkan semakin rendah konsentrasi dekstrin yang ditambahkan maka serbuk yang dihasilkan akan semakin lengket, rasanya pun akan

lebih asam dan memiliki warna yang semakin kuning.

3.2. Hasil Uji *Organoleptik*

Perlakuan Markisa + *L. plantarum* Mar 8 dan A17 + Dekstrin 5% memberikan rasa sangat asam, lebih asam dibandingkan dengan penambahan dekstrin 10% dan 15%, berwarna kuning tua dan beraroma sangat menyengat (segar). Hal tersebut dikarenakan konsentrasi jus markisa lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi dekstrin. Struktur lengket seperti dodol atau gulali, saling menempel dan sulit untuk dipisahkan. Ini disebabkan karena kandungan dekstrin sebagai penyalut sangat sedikit, sehingga serbuk saling menempel dan tidak kering dengan sempurna sehingga nilai estetika kurang.

Markisa + *L. plantarum* Mar 8 dan A17 + Dekstrin 10% memberikan Rasa sedikit asam, warna serbuk kuning muda aromanya terasa segar. Hal tersebut dikarenakan penambahan dekstrin dengan konsentrasi optimal. Struktur halus dan lembut dilidah, namun tidak sehalus struktur pada penambahan dekstrin 15%. Kelarutan sangat baik, bersifat higroskopis dan nilai estetika baik.

Markisa + *L. plantarum* Mar 8 dan A17+ Dekstrin 15% mempunyai rasa kurang asam, warna serbuk putih pucat, beraroma kurang segar. Hal tersebut disebabkan karena penambahan dekstrin yang terlalu banyak menyebabkan produk didominasi oleh dekstrin sehingga sari dari markisa tertutup oleh dekstrin. Struktur sangat halus dan lembut dilidah, namun tidak sehalus struktur pada penambahan dekstrin 15%, kelarutan sangat baik bersifat higroskopis dan nilai estetika kurang.

L. plantarum Mar 8 + Dekstrin 15% rasanya sedikit manis, warna serbuk putih, aroma tidak segar. Struktur sangat halus dan lembut dilidah, kelarutan sangat baik, bersifat higroskopis dan nilai estetika kurang.

Markisa + Dekstrin 10% (Kontrol

Negatif) Rasa sama seperti pada markisa + *L. plantarum* Mar 8 (A17) + Dekstrin 10%. Pada uji organoleptik penambahan *L. plantarum* Mar 8 atau A17 tidak merubah rasa produk.

3.3. Hasil Uji Viabilitas

Analisis viabilitas yang diperoleh dari hasil penghitungan koloni *Lactobacillus* pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa jus markisa dan dekstrin dapat mempengaruhi jumlah viabilitas dari *L. plantarum* Mar 8 dan A17 dengan hasil viabilitas yang berbeda untuk tiap perlakuan. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa hampir semua perlakuan menghasilkan viabilitas setelah enkapsulasi sebesar 10^7 CfU/g,- jumlah tersebut masih memenuhi syarat sebagai probiotik, kecuali pada konsentrasi dekstrin 2% dengan kultur *L. plantarum* Mar 8 tidak memenuhi syarat karena tidak ada viabilitas sama sekali. Jumlah minimum bakteri yang dapat digunakan sebagai probiotik tidak kurang dari 10^6 CFU per gram²⁸⁾. Namun sebaiknya viabilitas lebih dari 10^6 CFU per gram dikarenakan kemungkinan berkurangnya viabilitasnya akibat lamanya penyimpanan.

Pengujian viabilitas *L. plantarum* Mar 8 dan A 17 sebelum enkapsulasi, segera setelah enkapsulasi, dan 2 minggu setelah enkapsulasi, dapat dilihat pada Tabel 2. di bawah ini.

Data hasil perhitungan *Colony Forming Unit* (cfu/g) setelah di logaritmanakan untuk dibuat dalam bentuk grafik.

Dari grafik (Gambar 2.) menunjukkan *L. plantarum* Mar8 + Dekstrin 10% (tanpa jus markisa) menghasilkan nilai rata-rata Log jumlah viabilitas setelah enkapsulasi dan 2 minggu setelah enkapsulasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan semua perlakuan yakni sebesar 8,312 Log₁₀ CfU/g dan nilai rata-rata Log jumlah viabilitas 2 minggu setelah enkapsulasi sebesar 9,275 Log₁₀ CfU/g. Hal ini disebabkan karena penambahan jus markisa dapat menurunkan

pH (lebih asam) sehingga mempengaruhi kemampuan *Lactobacillus* Mar 8 dan A17 dalam bertahan hidup (pH markisa 2,8-3). *Lactobacillus* dapat tumbuh pada pH 4-6 (Gsianturi, 2002)⁸. Dalam suasana asam dekstrin yang merupakan oligosakarida akan menjadi lebih lunak sehingga pembentukan salut atau pelindung menjadi lebih tipis. Lapisan pelindung atau penyalut yang tipis tidak dapat menahan panas dari alat spray dryer dengan baik sehingga bakteri yang ada didalamnya tidak dapat bertahan hidup.

Pada perlakuan dengan penambahan jus markisa, *Lactobacillus* A17 memiliki viabilitas setelah enkapsulasi dan 2 minggu setelah enkapsulasi yang lebih tinggi dengan berbagai konsentrasi dekstrin dibandingkan dengan *Lactobacillus* Mar8, sedangkan pada konsentrasi dekstrin 10% viabilitas *Lactobacillus* Mar 8 lebih tinggi dibandingkan dengan viabilitas dari *Lactobacillus* A17 namun secara statistik konsentrasi dekstrin 10% tidak memberikan perbedaan yang nyata. Nilai rata-rata Log jumlah viabilitas *Lactobacillus* Mar 8 dan A17 setelah enkapsulasi sebesar 7,32 Log₁₀ CfU/g dan 7,07 Log₁₀ CfU/g dan nilai rata-rata Log jumlah viabilitas 2 minggu setelah enkapsulasi sebesar 8,59 Log₁₀ CfU/g dan 7,28 Log₁₀ CfU/g, hal ini merupakan konsentrasi optimum untuk *L. plantarum* Mar 8, begitu juga dengan *Lactobacillus* A17. Viabilitas dipengaruhi oleh konsentrasi penyalut (dekstrin). Penyalut dengan konsentrasi yang rendah tidak dapat melindungi bakteri dengan baik dari panas, sedangkan konsentrasi penyalut yang tinggi menyebabkan serbuk yang dihasilkan lebih banyak sehingga jumlah koloni per gramnya akan semakin sedikit.

Pada proses enkapsulasi *Lactobacillus* tidak dapat tahan terhadap suhu tinggi, sehingga ditambahkan penyalut supaya sel dapat dilindungi dari panas. Temperatur optimal *Lactobacillus* lebih rendah dari 37°C (Frazier dan Westhoff, 1998)⁶.

Untuk mengetahui perbedaan dari tiap perlakuan, nilai viabilitas *L. plantarum*

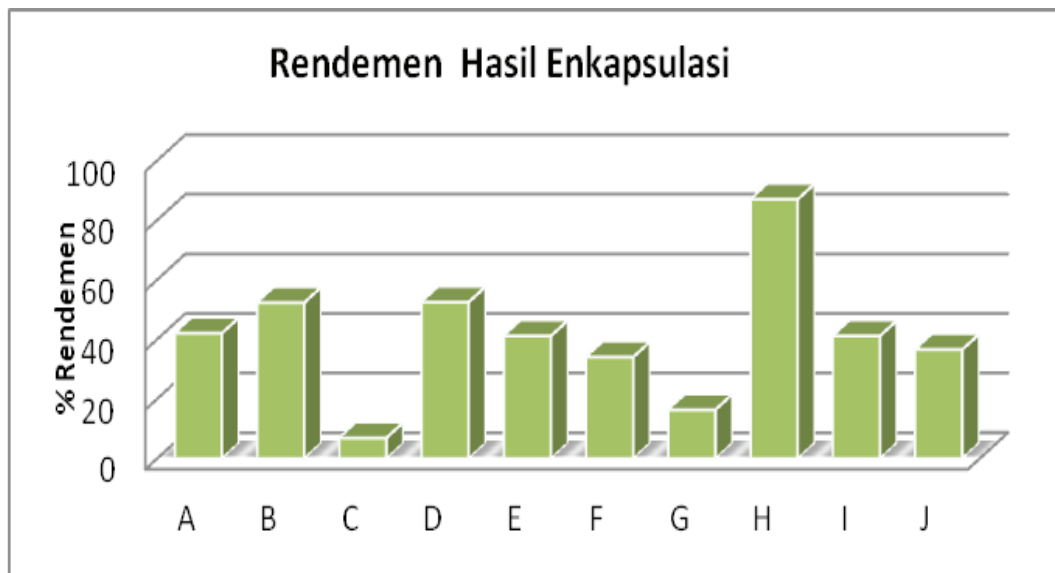
dianalisis dengan menggunakan SPSS for window versi.10. Hasil analisis statistik SPSS dengan taraf kepercayaan (α) = 0,05 menunjukkan bahwa, perbandingan Log jumlah koloni antara tiap perlakuan sebelum enkapsulasi, setelah enkapsulasi

dan 2 minggu setelah enkapsulasi yang berbeda nyata. Log jumlah koloni sebelum enkapsulasi pada semua perlakuan berbeda nyata terhadap perlakuan A (kontrol).

Perbandingan hasil analisis data Log jumlah koloni pada tiap perlakuan adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Bobot dan rendemen hasil enkapsulasi dari masing masing perlakuan

| No | Perlakuan | Bobot Akhir Spray drying (mg) | Rendemen (%) |
|----|--|-------------------------------|--------------|
| 1 | Jus Markisa+Dekstrin 10%(Kontrol) (A) | 4200 | 42 |
| 2 | Mar8+Dekstrin10%(tanpa jus markisa)(B) | 5823,8 | 52,24 |
| 3 | Jus Markisa+Mar 8+ Dekstrin 2% (C) | 200 | 6,87 |
| 4 | Jus Markisa+Mar 8+ Dekstrin 5% (D) | 3182 | 52,43 |
| 5 | Jus Markisa+Mar 8+ Dekstrin 10% (E) | 4605,9 | 41,08 |
| 6 | Jus Markisa+Mar 8+ Dekstrin 15% (F) | 5400 | 33,96 |
| 7 | Jus Markisa+A17+ Dekstrin 2% (G) | 400 | 16,32 |
| 8 | Jus Markisa+A17+ Dekstrin 5% (H) | 4736,7 | 86,93 |
| 9 | Jus Markisa+A17+ Dekstrin 10% (I) | 4310,3 | 41,07 |
| 10 | Jus Markisa+A17+ Dekstrin 15% (J) | 5649,6 | 36,48 |



Gambar 1. Grafik Rendemen Hasil Enkapsulasi

Keterangan :

(A) Markisa + Dekstrin 10% (Kontrol)
 (B) Mar8+Dekstrin 10%(tanpa jus markisa)
 (C) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 2%
 (D) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 5%
 (E) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 10%

(F) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 15%
 (G) Markisa + A17+ Dekstrin 2%
 (H) Markisa + A17+ Dekstrin 5%
 (I) Markisa + A17+ Dekstrin 10%
 (J) Markisa+A17+Dekstrin15%

Pada konsentrasi dekstrin 2%. *L. plantarum* Mar 8 + markisa (C) dengan *Lactobacillus* A17 + markisa (G) memiliki hasil analisis setelah enkapsulasi yang berbeda nyata, hal ini disebabkan karena setelah spray dryer *Lactobacillus* Mar 8 sama sekali tidak ada yang hidup, sedangkan pada *Lactobacillus* A17 masih dapat bertahan hidup pada proses pemanasan. Pada penyimpanan selama 2 minggu setelah

tidak berbeda nyata dengan *Lactobacillus* Mar 8.

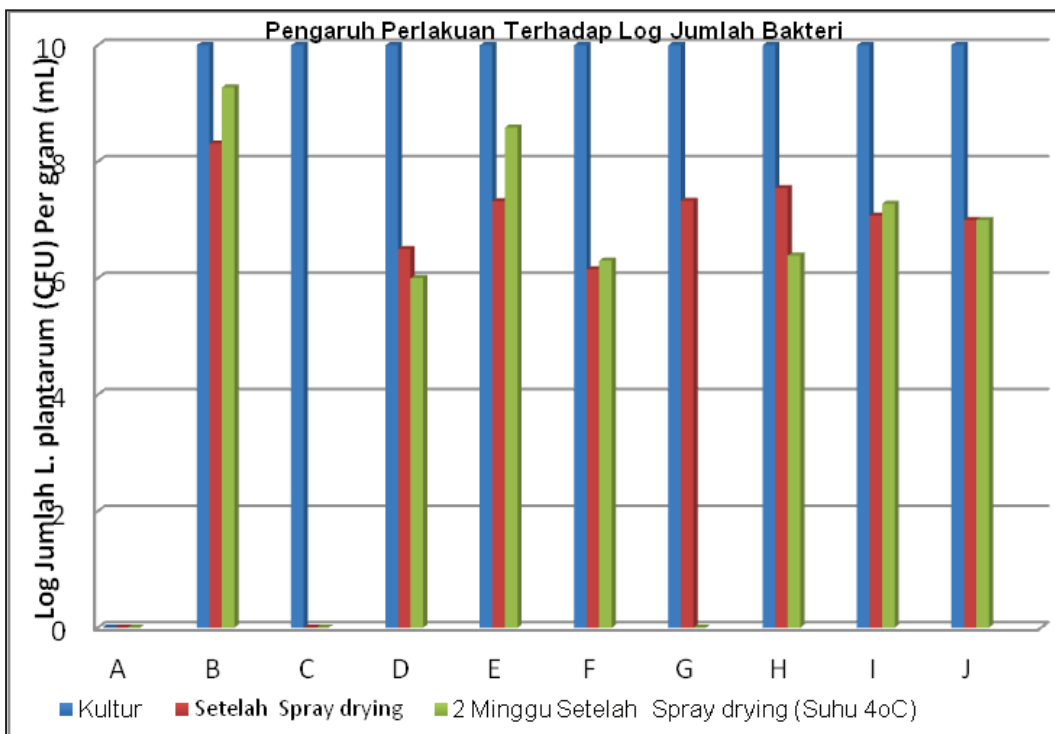
Pada konsentrasi dekstrin 5%. *L. plantarum* Mar 8 + markisa (D) dengan *Lactobacillus* A17 + markisa (H) memiliki hasil analisis setelah enkapsulasi yang berbeda nyata, namun pada penyimpanan selama 2 minggu setelah enkapsulasi perbandingan hasil analisis antara keduanya tidak berbeda nyata.

Tabel 2. Hasil Analisis Log Jumlah Bakteri Antara Sebelum Enkapsulasi, Setelah Enkapsulasi dan 2 Minggu Setelah Enkapsulasi

| No | Perlakuan | Kultur | Setelah Spray drying | Rata2 | 2 Minggu Setelah Spray drying (Suhu 4oC) | Rata2 |
|----|--|-------------|----------------------|-------|--|-------|
| | | Log10 cfu/g | | | | |
| 1 | Jus Markisa + Dekstrin 10% (Kontrol) | 10 | 0,000 | 0,00 | 0,000 | 0,00 |
| | | | 0,000 | | 0,000 | |
| 2 | Mar 8 + Dekstrin 10% (tanpa jus markisa) | 10 | 8,255 | 8,31 | 9,260 | 9,28 |
| | | | 8,369 | | 9,290 | |
| 3 | Jus Markisa + Mar 8 + Dekstrin 2% | 10 | 0,000 | 0,00 | 0,000 | 0,00 |
| | | | 0,000 | | 0,000 | |
| 4 | Jus Markisa + Mar 8 + Dekstrin 5% | 10 | 6,301 | 6,50 | 6,000 | 6,00 |
| | | | 6,699 | | 6,000 | |
| 5 | Jus Markisa + Mar 8 + Dekstrin 10% | 10 | 7,301 | 7,32 | 8,230 | 8,59 |
| | | | 7,342 | | 8,944 | |
| 6 | Jus Markisa + Mar 8 + Dekstrin 15% | 10 | 6,000 | 6,15 | 6,301 | 6,30 |
| | | | 6,301 | | 6,301 | |
| 7 | Jus Markisa + A17 + Dekstrin 2% | 10 | 7,477 | 7,33 | 0,000 | 0,00 |
| | | | 7,176 | | 0,000 | |
| 8 | Jus Markisa + A17 + Dekstrin 5% | 10 | 7,477 | 7,55 | 6,000 | 6,39 |
| | | | 7,613 | | 6,778 | |
| 9 | Jus Markisa + A17 + Dekstrin 10% | 10 | 7,000 | 7,07 | 7,477 | 7,28 |
| | | | 7,146 | | 7,079 | |
| 10 | Jus Markisa + A17 + Dekstrin 15% | 10 | 7,000 | 7,00 | 7,000 | 7,00 |
| | | | 7,000 | | 7,000 | |

enkapsulasi perbandingan hasil analisis antara keduanya tidak berbeda nyata, hal ini dikarenakan pada proses penyimpanan selama 2 minggu *Lactobacillus* A17 tidak dapat bertahan hidup, sehingga viabilitasnya

Pada konsentrasi dekstrin 10%. *L. plantarum* Mar 8 + markisa (E) dengan *Lactobacillus* A17 + markisa (I) memiliki hasil analisis setelah enkapsulasi yang tidak berbeda nyata, namun pada penyimpanan



Gambar 2. Grafik pengaruh perlakuan terhadap Log jumlah bakteri

Keterangan :

- (A) Markisa + Dekstrin 10% (Kontrol)
- (B) Mar 8 + Dekstrin 10% (tanpa markisa)
- (C) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 2%
- (D) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 5%
- (E) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 10%

- (F) Markisa + Mar 8 + Dekstrin 15%
- (G) Markisa + A 17 + Dekstrin 2%
- (H) Markisa + A 17 + Dekstrin 5%
- (I) Markisa + A 17 + Dekstrin 10%
- (J) Markisa+A17+Dekstrin15%

selama 2 minggu setelah enkapsulasi perbandingan hasil analisis antara keduanya berbeda nyata.

Pada konsentrasi dekstrin 15%. *L. plantarum* Mar 8 + markisa (F) dengan *Lactobacillus* A17 + markisa (J) memiliki hasil analisis setelah enkapsulasi dan 2 minggu setelah enkapsulasi yang berbeda nyata.

Dengan konsentrasi dekstrin yang sama *Lactobacillus* A 17 memiliki viabilitas setelah enkapsulasi dan 2 minggu setelah enkapsulasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan *L. plantarum* Mar 8, karena berdasarkan penelitian sebelumnya *Lactobacillus* A17 memiliki ketahanan terhadap pH rendah lebih baik dibandingkan dengan *L. plantarum* Mar 8.

3.4 Hasil Uji Identifikasi *Lactobacillus*

Setelah enkapsulasi dilakukan identifikasi kembali bakteri yang tumbuh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang terdapat dalam serbuk setelah enkapsulasi adalah *Lactobacillus* dengan terbentuknya zona bening pada media karena *Lactobacillus* mampu mendegradasi CaCO_3 yang kemudian digunakan sebagai bahan dalam proses metabolisme bakteri tersebut. Hasil uji katalase menunjukkan katalase negatif dengan tidak terbentuknya gelembung gas pada koloni dan sekitarnya, sedangkan pada pewarnaan gram *Lactobacillus* menunjukkan bakteri gram positif dengan memperlihatkan bakteri

yang berwarna ungu, sehingga bakteri yang tumbuh setelah enkapsulasi merupakan bakteri yang sama dengan sebelum enkapsulasi yakni *Lactobacillus* Mar 8 dan A17.

3.5. Hasil Perhitungan Waktu Simpan

Pada Tabel 3. terlihat bahwa *Lactobacillus* A 17 (I) dan *L. plantarum* Mar 8 (E), waktu simpan untuk mencapai jumlah sel 106 Cfug yang paling lama yaitu pada konsentrasi dekstrin 10% selama 73,02 hari dan 14,63 hari. Waktu simpan paling panjang adalah pada *Lactobacillus* A17 dengan konsentrasi dekstrin 10%.

Hasil penghitungan ini menggunakan rumus :

Nilai rata-rata Log jumlah viabilitas setelah enkapsulasi (N2) dan nilai rata-rata Log jumlah viabilitas 2 minggu (336 jam) setelah enkapsulasi (N1)

Menghitung waktu simpan (t) hingga mencapai jumlah sel 106 cfu/g :

$$\square \text{Log N2} - \text{Log N1} \square = k (t) / 2,303$$

Waktu simpan pada setiap sampel berbeda-beda tergantung pada laju kematian sel, laju kematian ini berhubungan dengan media hidup sel tersebut. Bila perkembangan

bakteri cepat maka nutrisi dalam mediaupun akan cepat habis sehingga waktu simpannya pun akan pendek (Tabel 3).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pada *L. plantarum* Mar 8 dan A17 dengan penambahan dekstrin konsentrasi 10% menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan dekstrin pada konsentrasi 2%, 5%, dan 15%. Nilai rata-rata Log jumlah viabilitas dari *L. plantarum* Mar 8 setelah enkapsulasi sebesar 7,32 Log10 Cfug dan nilai rata-rata Log jumlah viabilitas 2 minggu setelah enkapsulasi sebesar 8,59 Log10Cfu/g. Sedangkan pada *Lactobacillus* A 17 nilai rata-rata Log jumlah viabilitas setelah enkapsulasi sebesar 7,07Log10 Cfug dan nilai rata-rata Log jumlah viabilitas 2 minggu setelah enkapsulasi sebesar 7,28 Log10 Cfug. *Lactobacillus* A17 konsentrasi dekstrin 10% probiotiknya masih dapat disimpan sampai 73,02 hari dengan laju kematian 0,00141Cfu/g/jam sedangkan *L.plantarum* Mar8 hanya 14,63 hari dengan laju kematian 0,00867 Cfug/jam,sehingga

Table 3. Waktu Simpan Probiotik

| No | Perlakuan | Laju Kematian (k) (Cfu/g/jam) | Waktu Simpan Probiotik (Hari) |
|----|--------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1 | Jus Markisa+ Mar 8+ Dekstrin 2% | Negatif | Negatif |
| 2 | Jus Markisa+ A 17+ Dekstrin 2% | 0,05 | 2,55 |
| 3 | Jus Markisa+ Mar 8+ Dekstrin 5% | 0,00343 | 13,99 |
| 4 | Jus Markisa+ A 17+ Dekstrin 5% | 0,00792 | 18,72 |
| 5 | Jus Markisa+ Mar 8+ Dekstrin 10% | 0,00867 | 14,63 |
| 6 | Jus Markisa+ A 17+ Dekstrin 10% | 0,00141 | 73,02 |
| 7 | Jus Markisa+ Mar 8+ Dekstrin 15% | 0,00281 | 5,16 |
| 8 | Jus Markisa+ A 17+ Dekstrin 15% | 0 | Tidak terhitung |
| 9 | Mar 8 + Dekstrin 10% (Pembanding) | 0,0066 | 36,98 |
| 10 | Jus Markisa + Dekstrin 10% (Kontrol) | Negatif | Negatif |

Lactobacillus A17 dengan konsentrasi dektrin 10% menggunakan jus markisa sebagai penambah rasa dapat direkomendasikan sebagai probiotik dalam bentuk sediaan serbuk.

5. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai enkapsulasi *Lactobacillus* dan parameter-parameter yang mendukung sehingga menghasilkan produk yang lebih baik berkualitas dengan jumlah viabilitas yang tinggi, dan masa simpan yang panjang, selain itu perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengolahan serbuk hasil enkapsulasi agar dapat dikonsumsi masyarakat dengan bentuk sediaan yang lebih praktis dan lebih disukai.

DAFTAR PUSTAKA

- Dunne, C. L. Mahony, L. Murphy, G. Thornton, D. Morrissey, S. Halloran, M. Feeney, S. Flynn, G. Fitzgerald, C. Daly, B. Kiely, G. Sullivan, F. Shanahan and J. K. Collins. 2001. In Vitro Selection criteria for probiotic of human origin: correlation with in vivo finding 1-4. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001:73 (suppl):386S-92S
- Segorous, D. P. Maragkoudakis, K. Petraki, M. Gonzalez, E. Eriotou, S. Michopoulos, G. alantzoulou, E. Tsakalidou and A. Mentis. 2004. In Vitro and In Vivo Inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 70(1):518-526
- Lisal, J. S. 2005. Konsep Probiotik dan Prebiotik untuk Modulasi Mikrobiota Usus Besar. *J. Med. Nus.* 26(4) : 259-262.
- Tjay, T.H. dan K. Raharja. 2002. Obat-obat Penting Edisi Kelima. PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia : Jakarta
- Fuller, R. 1989. Probiotics in Man and Animals. Horizon Scientific Press : Norfolk, England.
- Yukuchi, H., T. Goto, and S. Okogoni. 1992. Fermented Food. 2nd Edition. Elsevier Applied Science Publisher Ltd : London.
- Surono, S. I. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT Tri Cipta Karya : Jakarta.
- Isolauri, E., Y. Sutas, P. Kankaanpää, H. Arvilommi and S. Salminen. 2001. Probiotics: effects on immunity 1-3. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001:73 (Suppl):444S-50S
- Branen, A. L. 1993. Antimicrobials in Food. 2nd Edition. Marcell Dekker. Inc., New York
- Costilow, R. N. 1981. Manual of Methods for General Bacteriology. American Society for Microbiology : Washington D. C
- Gsianturi. 2002. Probiotik dan Prebiotik untuk Kesehatan. Kompas, Minggu, 27 Januari 2002
- James, R., C. Lazdunski, and F. Pattus. 1992. Bacteriocins, Microcins, and Lantibiotics. Springer-Verlag : Berlin, Heidelberg.
- Jenie, B. S. L. dan S. E. Rini. 1995. Aktivitas Anti Mikroba dari Beberapa Spesies *Lactobacillus* Terhadap Mikroba Patogen dan Perusak Makanan, *Buletin Teknol. Ind. Pangan.* 6(2) : 46-50
- Molin, G. 2001. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v1-3. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001: 73 (Suppl): 380S-5S
- Tamime, A. Y. and R. K. Robinson. 1989. Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press : Oxford.
- Risch, S.J., 1995. Encapsulation: Overview of Uses and Techniques. Di Dalam S.J. Risch and G.A. Reineccius (Eds.). Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients. American Chemical Society, Washington, DC.

17. Masters, K. 1979. Spray Drying Handbook. John Wiley and Sons : New York.
18. Potter, N.N. 1980. Food Science. The Avi Pub. Co. Inc., Wesport, conneticut.
19. Lewis, J. E. 1993. Cheese Starter. Development and Application of the Lewis System. Elsevier Applied Science Publisher : London.
20. Rahmat. 1988. Pembuatan Dan Karakterisasi Tepung Sari Buah Markisa. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor : Bogor
21. James, E.F. Reynold and A.B. Prasad. 1987. Martindale : The Complete Drug Reference. The Pharmaceutical Press : London.
22. Anonymous. 1998. Pasca Panen Markisa. Departemen Pertanian Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) : Sukarami.
23. Brooks, G.F, J.F. Buteel, dan A. S.Morsedan. 2001. Mikrobiologi kedokteran edisi pertama. Penerjemah dan Editor : Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Erlangga. Salemba Media : Jakarta.
24. Leslie, S. B., E. Israeli, B. Lighthart, J. H. Crowe dan L. M. Crowe. 2003. Threhalose and Sucrose Protect both Membranes and Proteins in Intact Bacteria During Drying . Applied and Environmental Microbiology, 95 (1): 3592-3597.
25. Zamora, L. M., C. Carretero and D. Pares. 2006. Comparative Survival Rates of Lactic Acid Bacteria Isolate From Blood, Following Spray drying ang Freeze drying. Food Scince Technology International. 12(1) : 77-84
26. Lay, Bibiana. 1994. Analisis Mikrobiologi Laboratorium. Pt. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
27. Hadioetomo, R.S. 1985. Mikrobiologi Pangan dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. PT Gramedia : Jakarta.
28. Svenssan, U. 1999. Industrial Prospektif. In : G. W. Tanlok (Ed). Probiotick, a Critical. Review. Horison Scient Fisik Producer : Angland
29. Frazier, W. B., and D. C. Westhoff. 1998. Food Microbiology. Third edition. Mc Graw-Hill, inc : New York. 539 hlm.